

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-067362

(43)Date of publication of application : 11.03.1997

(51)Int.Cl.

C07D311/36

A61K 31/35

C12P 17/16

(21)Application number : 07-224944

(71)Applicant : SANKYO CO LTD

(22)Date of filing : 01.09.1995

(72)Inventor : SUGANO MICHIIHIRO

OGURA YOKO

HOSHINO EMIKO

HAMADA TAKAKAZU

ENOKIDA RYUZO

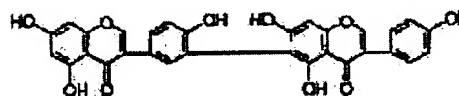
TAKAMATSU YASUYUKI

(54) 5ALPHA-REDUCTASE INHIBITOR, BISISOFLAVONE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a novel bisisoflavone as a 5  $\alpha$ -reductase inhibitor which has the inhibitory action against 5  $\alpha$ -reductase and is useful as a preventive and therapeutic agent for prostatic hyperplasia.

SOLUTION: A-758491 of the formula or its salt. The compound of the formula has the following physical and chemical properties: properties: pale yellow powder; molecular formula: C<sub>30</sub>H<sub>18</sub>O<sub>10</sub> (determined by high-resolution mass spectroscopy); molecular weight: 538 (mass spectrometry); solubility: soluble in methanol, ethanol, acetone, dimethyl sulfoxide and benzene, insoluble in water, chloroform, diethyl ether, ethyl acetate; color reaction: positive to sulfuric acid and iodine. The compound of the formula is obtained by aerobically culturing SANK 60695 strain.



(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-67362

(43) 公開日 平成9年(1997)3月11日

| (51) Int.Cl. <sup>8</sup> | 識別記号 | 庁内整理番号 | FI             | 技術表示箇所 |
|---------------------------|------|--------|----------------|--------|
| C 0 7 D 311/36            |      |        | C 0 7 D 311/36 |        |
| A 6 1 K 31/35             | ACV  |        | A 6 1 K 31/35  | ACV    |
| C 1 2 P 17/16             |      |        | C 1 2 P 17/16  |        |

審査請求 未請求 請求項の数13 OL (全 12 頁)

|           |                |          |   |
|-----------|----------------|----------|---|
| (21) 出願番号 | 特願平7-224944    | (71) 出願人 | 000001856<br>三共株式会社<br>東京都中央区日本橋本町3丁目5番1号 |
| (22) 出願日  | 平成7年(1995)9月1日 | (72) 発明者 | 菅野 道裕<br>東京都品川区広町1丁目2番58号 三共株式会社内         |
|           |                | (72) 発明者 | 小倉 陽子<br>東京都品川区広町1丁目2番58号 三共株式会社内         |
|           |                | (72) 発明者 | 保志野 恵美子<br>東京都品川区広町1丁目2番58号 三共株式会社内       |
|           |                | (74) 代理人 | 弁理士 大野 彰夫 (外2名)<br>最終頁に続く                 |

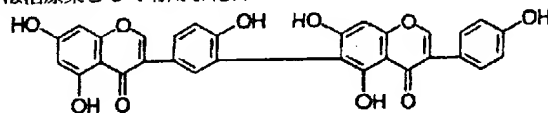
(54) 【発明の名称】 5 $\alpha$ -還元酵素阻害剤ビスイソフラボン類

(57) 【要約】

【課題】 5 $\alpha$ -還元酵素阻害作用を有し、例えば前立腺肥大症の予防薬および/または治療薬として有用な化合物を提供する。

【解決手段】 式

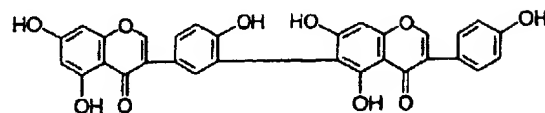
【化1】



を有するA-758491またはその塩。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項1】 式



## 【化1】

を有するA-758491またはその塩。

【請求項2】 下記の性状を有するA-758491またはその塩。

1) 物質の性状: 淡黄色粉末

2) 分子式:  $C_{30}H_{18}O_{10}$  (高分解能マスペクトル法により測定)

3) 分子量: 538 (質量分析法により測定)

4) 赤外線吸収スペクトル:  $\nu_{max}$   $cm^{-1}$   
液膜中で測定した赤外線吸収スペクトルは、次に示す通りである。

3078, 1651, 1613, 1274, 1248, 1046, 1024, 840

5)  $^1H$ -核磁気共鳴スペクトル: ( $\delta$ : ppm)

重クロロホルムおよび重ジメチルスルホキシド中、内部基準にテトラメチルシランを使用して測定した核磁気共鳴スペクトル(360 MHz)は、以下の通りである。

13.07 (1H, s), 12.89 (1H, s), 8.22 (1H, s), 8.14 (1H, s), 7.37 (1H, dd,  $J=8.5, 2.0$  Hz), 7.33 (1H,

s), 7.32 (2H, d,  $J=6.3$  Hz), 6.94 (1H, d,  $J=8.3$  Hz), 6.78 (2H, d,  $J=8.6$  Hz), 6.34 (1H, s), 6.32 (1H, d,  $J=2.0$  Hz), 6.18 (1H, d,  $J=2.0$  Hz)

6) 紫外線吸収スペクトル:  $\lambda_{max}$  nm ( $\epsilon$ )

264 (35800), 338 (sh, 4100)

7) 溶解性: メタノール、エタノール、アセトン、ジメチルスルホキシド、ベンゼンに可溶。水、クロロホルム、ジエチルエーテル、酢酸エチルに不溶。

8) 呈色反応: 硫酸、ヨードに陽性。

9) 薄層クロマトグラフィー:

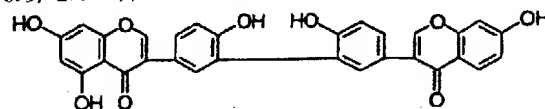
Rf値: 0.3

吸着剤: シリカゲルプレート (Kieselgel 60 F254, メルク社製)

展開溶媒: メチレンクロライド: メタノール = 9:1。

## 【請求項3】 式

## 【化2】



を有するA-758492またはその塩。

【請求項4】 下記の性状を有するA-758492またはその塩。

1) 物質の性状: 淡黄色粉末

2) 分子式:  $C_{30}H_{18}O_9$  (高分解能マスペクトル法により測定)

3) 分子量: 522 (質量分析法により測定)

4) 赤外線吸収スペクトル:  $\nu_{max}$   $cm^{-1}$   
臭化カリウム (KBr) 錠剤法で測定した赤外線吸収スペクトルは、次に示す通りである。

3136, 1652, 1624, 1580, 1290, 1259, 1048, 1017, 832

5)  $^1H$ -核磁気共鳴スペクトル: ( $\delta$ : ppm)

重ジメチルスルホキシド中、内部基準にテトラメチルシランを使用して測定した核磁気共鳴スペクトル(360 MHz)は、以下の通りである。

12.95 (1H, s), 8.34 (1H, s), 8.31 (1H, s), 7.96 (1H, d,  $J=8.7$  Hz), 7.39 (1H, d,  $J=2.3$  Hz), 7.38 (1H,

H, d,  $J=2.3$  Hz), 7.34 (1H, dd,  $J=3.7, 2.3$  Hz), 7.32 (1H, dd,  $J=3.8, 2.4$  Hz), 6.93 (1H, d,  $J=3.2$  Hz), 6.91 (1H, d,  $J=3.1$  Hz), 6.86 (1H, dd,  $J=8.8, 2.2$  Hz), 6.79 (1H, d,  $J=2.2$  Hz), 6.30 (1H, d,  $J=2.1$  Hz), 6.16 (1H, d,  $J=2.1$  Hz)

6) 紫外線吸収スペクトル:  $\lambda_{max}$  nm ( $\epsilon$ )

260 (35500), 302 (sh, 14130)

7) 溶解性: メタノール、エタノール、アセトン、ジメチルスルホキシド、ベンゼンに可溶。水、クロロホルム、ジエチルエーテル、酢酸エチルに不溶。

8) 呈色反応: 硫酸、ヨードに陽性。

9) 薄層クロマトグラフィー:

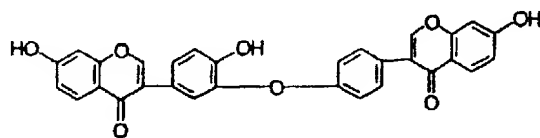
Rf値: 0.3

吸着剤: シリカゲルプレート (Kieselgel 60 F254, メルク社製)

展開溶媒: メチレンクロライド: メタノール = 9:1。

## 【請求項5】 式

## 【化3】



を有するA-758493またはその塩。

【請求項6】下記の性状を有するA-758493またはその塩。

1) 物質の性状: 無色粉末

2) 分子式:  $C_{30}H_{18}O_8$  (高分解能マスペクトル法により測定)

3) 分子量: 506 (質量分析法により測定)

4) 赤外線吸収スペクトル:  $\nu_{max}$   $cm^{-1}$

臭化カリウム (KBr) 錠剤法で測定した赤外線吸収スペクトルは、次に示す通りである。

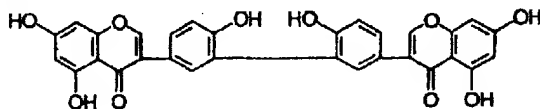
3209, 1625, 1591, 1508, 1456, 1290, 1266, 1196, 1098

5)  $^1H$ -核磁気共鳴スペクトル: ( $\delta$ : ppm)

重クロロホルムおよび重ジメチルスルホキシド中、内部基準にテトラメチルシランを使用して測定した核磁気共鳴スペクトル(360 MHz)は、以下の通りである。

8.21 (1H, s), 8.20 (1H, s), 7.93 (1H, d,  $J=6.2$  Hz), 7.90 (1H, d,  $J=6.2$  Hz), 7.49 (1H, s), 7.29 (1H, d,  $J=2.1$  Hz), 7.25 (1H, dd,  $J=8.3, 2.1$  Hz), 7.01 (1H, d,  $J=8.3$  Hz), 6.93 (1H, s), 6.86 (1H, dd,  $J=6.1, 2.3$  Hz), 6.84 (1H, dd,  $J=6.1, 2.3$  Hz), 6.77 (1H, d,  $J=3.1$  Hz), 6.76 (1H, d,  $J=2.3$  Hz)

6)  $^{13}C$ -核磁気共鳴スペクトル: ( $\delta$ : ppm)



を有するA-758494またはその塩。

【請求項8】下記の性状を有するA-758494またはその塩。

1) 物質の性状: 淡黄色粉末

2) 分子式:  $C_{30}H_{18}O_{10}$  (高分解能マスペクトル法により測定)

3) 分子量: 538 (質量分析法により測定)

4) 赤外線吸収スペクトル:  $\nu_{max}$   $cm^{-1}$

臭化カリウム (KBr) 錠剤法で測定した赤外線吸収スペクトルは、次に示す通りである。

3363, 1653, 1625, 1581, 1279, 1248, 1201, 1048, 995, 835

5)  $^1H$ -核磁気共鳴スペクトル: ( $\delta$ : ppm)

重クロロホルムおよび重ジメチルスルホキシド中、内部基準にテトラメチルシランを使用して測定した核磁気共鳴スペクトル(360 MHz)は、以下の通りである。

12.99 (1H, s), 8.34 (1H,

重クロロホルムおよび重ジメチルスルホキシド中、内部基準にテトラメチルシランを使用して測定した核磁気共鳴スペクトル(90 MHz)は、以下の通りである。

174.5 (2C, s), 163.6 (s), 163.5 (s), 157.6 (s), 157.6 (s), 157.5 (s), 152.7 (d), 152.6 (d), 149.1 (s), 141.8 (s), 129.9 (2C, d), 126.9 (2C, d), 125.7 (d), 125.6 (d), 123.5 (s), 123.1 (s), 122.6 (s), 122.5 (d), 116.9 (d), 116.0 (s), 115.6 (2C, d), 115.4 (2C, d), 102.0 (d), 101.9 (d)

7) 紫外線吸収スペクトル:  $\lambda_{max}$  nm ( $\epsilon$ )  
249 (26000), 305 (sh, 10240)

8) 溶解性: メタノール、エタノール、アセトン、ジメチルスルホキシド、ベンゼンに可溶。水、クロロホルム、ジエチルエーテル、酢酸エチルに不溶。

9) 呈色反応: 硫酸、ヨードに陽性。

10) 薄層クロマトグラフィー:

Rf値: 0.3

吸着剤: シリカゲルプレート (Kieselgel 60 F254, メルク社製)

展開溶媒: メチレンクロライド: メタノール = 9:1。

【請求項7】式

【化4】

s), 7.40 (1H, d,  $J=2.2$  Hz), 7.33 (1H, dd,  $J=8.6, 2.2$  Hz), 6.85 (1H, d,  $J=8.3$  Hz), 6.37 (1H, d,  $J=2.2$  Hz), 6.21 (1H, d,  $J=2.2$  Hz)

6) 紫外線吸収スペクトル:  $\lambda_{max}$  nm ( $\epsilon$ )  
262 (31200), 330 (sh, 4300)

7) 溶解性: メタノール、エタノール、アセトン、ジメチルスルホキシド、ベンゼンに可溶。水、クロロホルム、ジエチルエーテル、酢酸エチルに不溶。

8) 呈色反応: 硫酸、ヨードに陽性。

9) 薄層クロマトグラフィー:

Rf値: 0.3

吸着剤: シリカゲルプレート (Kieselgel 60 F254, メルク社製)

展開溶媒: メチレンクロライド: メタノール = 9:1。

【請求項9】ミクロビスポラ属に属するA-758491、A-758492、A-758493および/またはA-758494生産菌を培養し、その培養物から、A-758491、A-758492、A-758493および/またはA-758494を採取することからなるA-758491、A-758492、A-758493および/またはA-758494の製法。

【請求項10】ミクロビスポラ属に属するA-758491、A-758492、A-758493および/またはA-758494生産菌がミクロビスポラ・エスピー SANK 60695株である請求項9記載の製法。

【請求項11】A-758491、A-758492、A-758493および/またはA-758494あるいはその塩からなる医薬。

【請求項12】A-758491、A-758492、A-758493および/またはA-758494あるいはその塩を有効成分とする5 $\alpha$ -還元酵素阻害剤。

【請求項13】A-758491、A-758492、A-758493および/またはA-758494あるいはその塩を有効成分とする前立腺肥大症の予防薬および/または治療薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は5 $\alpha$ -還元酵素阻害作用を有する新規なビスイソフラボン類に関する。

【0002】

【従来の技術】前立腺肥大症は、男性の加齢に伴う疾患であり、近年の平均寿命の延長によりその患者数は著しく増加している。本疾患の基本的病態は肥大血節の増大による尿道抵抗の増加で、症状は排尿障害、残尿感である。ところで、前立腺肥大症組織では正常前立腺組織

と比較して、5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロン(5 $\alpha$ -DHT)含量が有意に高いことが知られている。この5 $\alpha$ -DHTはおもに男性の生殖器である前立腺で、テストステロンからテストステロン-5 $\alpha$ -還元酵素によって合成される。そこでテストステロン-5 $\alpha$ -還元酵素を阻害し、5 $\alpha$ -DHTを低下させることで前立腺肥大症を治療しようとする薬剤の開発が行われている。現在までに開発されている薬剤としては、4-アザステロイド骨格を有するフィナステロイド(G. H. Rasmussen, J. R. Berman et al., J. Med. Chem., 29巻、2298-2315頁(1986年))がある。またステロイド骨格をもたない合成化合物としてはベンズアニリド骨格を有するONO-3805(EP 0 291 245 A2)が知られている。また天然物由来の物としては、フェナジン骨格を有するWS-9659AおよびB(O. Nakayama, M. Kohsaka et al., J. Antibiot., 42巻、1221-1240頁(1989年))、リボフラビン(O. Nakayama, M. Kohsaka et al., J. Antibiot., 43巻、1615-1616頁(1990年))が知られている。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明者等はミクロビスポラ属(Microbispora)属に属するSANK 60695株の培養液から5 $\alpha$ -還元酵素阻害作用を有する新規化合物ビスイソフラボン類が生産されることを見出して本発明を完成した。

【0004】

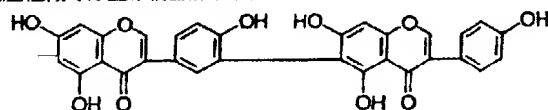
【課題を解決するための手段】本発明のビスイソフラボン類は下記の性状を有する。

【0005】(1) A-758491

1) 構造式:

【0006】

【化5】



【0007】2) 物質の性状: 淡黄色粉末

3) 分子式:  $C_{30}H_{18}O_{10}$  (高分解能マスペクトル法により測定)

4) 分子量: 538 (質量分析法により測定)。

【0008】5) 赤外線吸収スペクトル:  $\nu_{max}$   $cm^{-1}$  液膜中で測定した赤外線吸収スペクトルは、次に示す通りである。

3078, 1651, 1613, 1274, 1248, 1046, 1024, 840.

【0009】6)  $^1H$ -核磁気共鳴スペクトル: ( $\delta$ : ppm)

重クロロホルムおよび重ジメチルスルホキシド中、内部基準にテトラメチルシランを使用して測定した核磁気共鳴スペクトル(360 MHz)は、以下の通りである。

13.07 (1H, s), 12.89 (1H, s), 8.22 (1H, s), 8.14 (1H, s), 7.37 (1H, dd, J=8.5, 2.0 Hz), 7.33 (1H, s), 7.32 (2H, d, J=6.3 Hz), 6.94 (1H, d, J=8.3 Hz), 6.78 (2H, d, J=8.6 Hz), 6.34 (1H, s), 6.32 (1H, d, J=2.0 Hz), 6.18 (1H, d, J=2.0 Hz)。

【0010】7) 紫外線吸収スペクトル:  $\lambda_{max}$  nm ( $\epsilon$ )

264 (35800), 338 (sh, 4100)。

【0011】8) 溶解性: メタノール、エタノール、アセトン、ジメチルスルホキシド、ベンゼンに可溶。水、クロロホルム、ジエチルエーテル、酢酸エチルに不溶。

【0012】9) 呈色反応: 硫酸、ヨードに陽性。

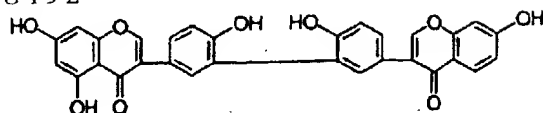
【0013】10) 薄層クロマトグラフィー:

Rf値: 0.3

吸着剤：シリカゲルプレート(Kieselgel 60 F254, メルク社製)

展開溶媒：メチレンクロライド：メタノール=9：1。

【0014】(2) A-758492



【0016】2) 物質の性状：淡黄色粉末

3) 分子式： $C_{30}H_{18}O_9$  (高分解能マスペクトル法により測定)

4) 分子量：522 (質量分析法により測定)。

【0017】5) 赤外線吸収スペクトル： $\nu_{max}$   $cm^{-1}$   
臭化カリウム(KBr)錠剤法で測定した赤外線吸収スペクトルは、次に示す通りである。

3136, 1652, 1624, 1580, 1290, 1259, 1048, 1017, 832。

【0018】6)  $^1H$ -核磁気共鳴スペクトル： $(\delta$  : ppm)

重ジメチルスルホキシド中、内部基準にテトラメチルシランを使用して測定した核磁気共鳴スペクトル(360 MHz)は、以下の通りである。

12.95 (1H, s), 8.34 (1H, s), 8.31 (1H, s), 7.96 (1H, d,  $J=8.7$  Hz), 7.39 (1H, d,  $J=2.3$  Hz), 7.38 (1H, d,  $J=2.3$  Hz), 7.34 (1H, dd,  $J=3.7, 2.3$  Hz), 7.32 (1H, dd,  $J=3.8, 2.4$  Hz), 6.93 (1H, d,  $J=3.2$  Hz), 6.91 (1H, d,  $J=3.1$  Hz), 6.86 (1H, dd,  $J=8.8,$

1) 構造式：

【0015】

【化6】

2.2 Hz), 6.79 (1H, d,  $J=2.2$  Hz), 6.30 (1H, d,  $J=2.1$  Hz), 6.16 (1H, d,  $J=2.1$  Hz)。

【0019】7) 紫外線吸収スペクトル： $\lambda_{max}$  nm ( $\epsilon$ )

260 (35500), 302 (sh, 14130)。

【0020】8) 溶解性：メタノール、エタノール、アセトン、ジメチルスルホキシド、ベンゼンに可溶。水、クロロホルム、ジエチルエーテル、酢酸エチルに不溶。

【0021】9) 呈色反応：硫酸、ヨードに陽性。

【0022】10) 薄層クロマトグラフィー：

Rf値：0.3

吸着剤：シリカゲルプレート(Kieselgel 60 F254, メルク社製)

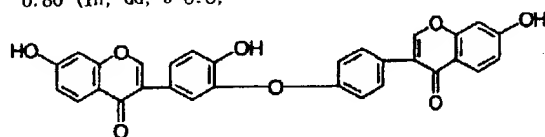
展開溶媒：メチレンクロライド：メタノール=9：1。

【0023】(3) A-758493

1) 構造式：

【0024】

【化7】



【0025】2) 物質の性状：無色粉末

3) 分子式： $C_{30}H_{18}O_8$  (高分解能マスペクトル法により測定)

4) 分子量：506 (質量分析法により測定)。

【0026】5) 赤外線吸収スペクトル： $\nu_{max}$   $cm^{-1}$   
臭化カリウム(KBr)錠剤法で測定した赤外線吸収スペクトルは、次に示す通りである。

3209, 1625, 1591, 1508, 1456, 1290, 1266, 1196, 1098。

【0027】6)  $^1H$ -核磁気共鳴スペクトル： $(\delta$  : ppm)

重クロロホルムおよび重ジメチルスルホキシド中、内部基準にテトラメチルシランを使用して測定した核磁気共鳴スペクトル(360 MHz)は、以下の通りである。

8.21 (1H, s), 8.20 (1H, s), 7.93 (1H, d,  $J=6.2$  Hz), 7.90 (1H, d,  $J=6.2$  Hz), 7.49 (1H, s), 7.29 (1H, d,  $J=2.1$  Hz), 7.25 (1H, dd,  $J=8.3, 2.1$  Hz), 7.01 (1H, d,  $J=8.3$  Hz), 6.93 (1H, s), 6.86 (1H, dd,  $J=$

$\approx 6.1, 2.3$  Hz), 6.84 (1H, dd,  $J=6.1, 2.3$  Hz), 6.77 (1H, d,  $J=3.1$  Hz), 6.76 (1H, d,  $J=2.3$  Hz)。

【0028】7)  $^{13}C$ -核磁気共鳴スペクトル： $(\delta$  : ppm)

重クロロホルムおよび重ジメチルスルホキシド中、内部基準にテトラメチルシランを使用して測定した核磁気共鳴スペクトル(90 MHz)は、以下の通りである。

174.5 (2C, s), 163.6 (s), 163.5 (s), 157.6 (s), 157.6 (s), 157.5 (s), 152.7 (d), 152.6 (d), 149.1 (s), 141.8 (s), 129.9 (2C, d), 126.9 (2C, d), 125.7 (d), 125.6 (d), 123.5 (s), 123.1 (s), 122.6 (s), 122.5 (d), 116.9 (d), 116.0 (s), 115.6 (2C, d), 115.4 (2C, d), 102.0 (d), 101.9 (d)。

【0029】8) 紫外線吸収スペクトル： $\lambda_{max}$  nm ( $\epsilon$ )

249 (26000), 305 (sh, 10240)。

【0030】9) 溶解性：メタノール、エタノール、アセトン、ジメチルスルホキシド、ベンゼンに可溶。水、

クロロホルム、ジエチルエーテル、酢酸エチルに不溶。

【0031】10) 呈色反応：硫酸、ヨードに陽性。

【0032】11) 薄層クロマトグラフィー：

Rf値： 0.3

吸着剤： シリカゲルプレート(Kieselgel 60 F254, メルク社製)

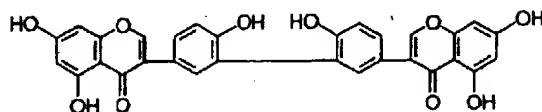
展開溶媒：メチレンクロライド：メタノール=9：1。

【0033】(4) A-758494

1) 構造式：

【0034】

【化8】



【0035】2) 物質の性状：淡黄色粉末

3) 分子式：  $C_{30}H_{18}O_{10}$  (高分解能マスペクトル法により測定)

4) 分子量： 538 (質量分析法により測定)。

【0036】5) 赤外線吸収スペクトル： $\nu_{max}$   $cm^{-1}$   
臭化カリウム(KBr)錠剤法で測定した赤外線吸収スペクトルは、次に示す通りである。

3363, 1653, 1625, 1581, 1279, 1248, 1201, 1048, 995, 835。

【0037】6)  $^1H$ -核磁気共鳴スペクトル： $(\delta$  : ppm)

重クロロホルムおよび重ジメチルスルホキシド中、内部基準にテトラメチルシランを使用して測定した核磁気共鳴スペクトル(360 MHz)は、以下の通りである。

12.99 (1H, s), 8.34 (1H, s), 7.40 (1H, d, J=2.2 Hz), 7.33 (1H, dd, J=8.6, 2.2 Hz), 6.85 (1H, d, J=8.3 Hz), 6.37 (1H, d, J=2.2 Hz), 6.21 (1H, d, J=2.2 Hz)。

【0038】7) 紫外線吸収スペクトル： $\lambda_{max}$  nm ( $\epsilon$ )

262 (31200), 330 (sh, 4300)。

【0039】8) 溶解性：メタノール、エタノール、アセトン、ジメチルスルホキシド、ベンゼンに可溶。水、クロロホルム、ジエチルエーテル、酢酸エチルに不溶。

【0040】9) 呈色反応：硫酸、ヨードに陽性。

【0041】10) 薄層クロマトグラフィー：

Rf値： 0.3

吸着剤： シリカゲルプレート(Kieselgel 60 F254, メルク社製)

展開溶媒：メチレンクロライド：メタノール=9：1。

【0042】本発明のビスイソフラボン類は、常法に従って塩にすることができる。そのような塩としては例えばリチウム、ナトリウム、カリウムのようなアルカリ金属塩；カルシウム、バリウムのようなアルカリ土類金属塩；マグネシウム塩；アルミニウム塩；などの金属塩、メチルアミン、ジメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、エタノールアミン、トリエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、アンモニアのようなアミン塩；グリシン、リジン、アルギニン、オルニチン、

グルタミン、アスパラギンのようなアミノ酸；などの塩基性塩を挙げることができる。好適には薬理上許容される塩である。

【0043】更に本発明において、ビスイソフラボン類またはその塩が溶剤和物(例えば水和物)を形成する場合には、これらもすべて含むものである。

【0044】例えば、本発明のビスイソフラボン類が、大気中に放置されたり、または再結晶をすることにより、水分を吸収し、吸着水が付着したり、水和物を形成する場合がある。本発明にはこのような塩も含まれる。

【0045】更に本発明において、生体内において代謝されてビスイソフラボン類またはその塩に変換される化合物、いわゆるプロドラッグもすべて含むものである。

【0046】本発明のビスイソフラボン類を生産するSANK 60695株の菌学的性状は以下の通りである。

【0047】(1) SANK 60695株はISP「インターナショナル・ストレプトマイセス・プロジェクト(International Streptomyces Project)」規定の培地上で28℃、14日間の培養により次のような形態学的特徴を示した。即ち、光学顕微鏡による観察ではSANK 60695株の基生菌糸は良好に伸長、分岐し茶味白、黄味橙、茶ないし暗い赤味茶色を示すが、ノカルディア(Nocardia)属菌株様の断裂やジグザグ伸長は観察されない。基生菌糸は希塩酸または希水酸化ナトリウム溶液によって色調の変化を示さない。気菌糸は単純分岐し白ないしピンク白色を示す。良く伸長し分岐した気菌糸上に縦に2個ずつ配列された孢子連鎖を豊富に形成する。走査型電子顕微鏡による観察では孢子は楕円形で、その表面構造は平滑状(Smooth)を示す。孢子の大きさは0.8-1.3 $\times$ 1-2 $\mu$ mである。孢子は気菌糸上のみ形成される。孢子の遊走性は観察されない。また、孢子的う、気菌糸の車軸分岐、気菌糸の断裂、菌核などの特殊器官は認められない。

【0048】(2) 各種培養基上での培養性状

SANK 60695株の28℃、14日間培養後の寒天培地上での培養性状は表1に示す通りである。

【0049】

【表1】

| 培地の種類                           | 項目*1  | SANK 60695株の性状 |
|---------------------------------|---|----------------|
| イーストエキス・<br>麦芽エキス寒天<br>(ISP 2)  | G : 良好、平坦、暗い赤味茶(2.5YR 2/3)*2<br>AM : 良好、ビロード状、ピンク白(7.5R 9/1)<br>R : 暗い茶(2.5YR 2/2)<br>SP : 産生せず |                |
| オートミール寒天<br>(ISP 3)             | G : 非常に良好、平坦、赤味茶(10R 3/6)<br>AM : 良好、ビロード状、ピンク白(7.5R 9/1)<br>R : 鈍赤味橙(10R 5/8)<br>SP : 産生せず     |                |
| 澱粉・無機塩寒天<br>(ISP 4)             | G : 良好、平坦、薄黄味橙(10YR 8/3)<br>AM : 僅かに形成、白<br>R : 薄黄味茶(10YR 8/4)<br>SP : 産生せず                     |                |
| グリセリン・<br>アスパラギン寒天<br>(ISP 5)   | G : 良好、平坦、茶味白(2.5Y 9/1)<br>AM : 余り良くない、白～ピンク白(7.5R 9/1)<br>R : 薄黄味橙(2.5Y 9/2)<br>SP : 産生せず      |                |
| ベアトン・イースト<br>エキス・鉄寒天<br>(ISP 6) | G : 良くない、平坦、茶(5YR 3/6)<br>AM : 形成せず<br>R : 薄黄味茶(10YR 6/4)<br>SP : 産生せず                          |                |
| チロシン寒天<br>(ISP 7)               | G : 良好、平坦、薄黄味橙(2.5Y 9/2)<br>AM : 余り良くない、白～ピンク白(7.5R 9/1)<br>R : 薄黄(2.5Y 9/3)<br>SP : 産生せず       |                |
| シュクロース・<br>硝酸塩寒天                | G : 良好、平坦、茶味白(2.5Y 9/1)<br>AM : 僅かに形成、白<br>R : 茶味白(2.5Y 9/1)<br>SP : 産生せず                       |                |
| グルコース・<br>アスパラギン寒天              | G : 良好、平坦、薄黄味茶(10YR 8/4)<br>AM : 余り良くない、白<br>R : 薄黄味茶(10YR 8/6)<br>SP : 産生せず                    |                |
| 栄養寒天<br>(DIFCO)                 | G : 非常に良好、平坦、暗い赤味茶(10R 3/4)<br>AM : 形成せず<br>R : 赤味黒(5R 2/2)<br>SP : 産生せず                        |                |
| ポテトエキス・<br>人参エキス寒天              | G : 良好、平坦、茶味紫(10R 3/3)<br>AM : 良好、ビロード状、ピンク白(7.5R 9/1)  |                |



R : 灰味赤(10R 6/3)

SP : 産生せず

水寒天

G : 余り良くない、平坦、  
明るい茶味灰(2.5YR 7/2)

AM : 僅かに形成、白

R : 明るい茶味灰(2.5YR 7/2)

SP : 産生せず

\*1 G ; 生育、 AM ; 気菌糸、 R ; 裏面、 SP ; 可溶性色素

\*2 マンセル方式に準拠した色調の表示。

【0050】(3) 生理学的性質 ある。

28℃で培養後、2日ないし21日間に観察した SA 【0051】

NK 60695株の生理学的性質は表2に示す通りで 【表2】

|                |        |
|----------------|--------|
| 澱粉の水解          | 陽 性    |
| ゼラチンの液化        | 生育せず   |
| 硝酸塩の還元         | 陽 性    |
| ミルクの凝固         | 陰 性    |
| ミルクのペプトン化      | 陰 性    |
| 基質分解性 ;        |        |
| カゼイン           | 陽 性    |
| チロシン           | 陰 性    |
| キサンチン          | 陰 性    |
| メラニン様色素生産性     | 陰 性    |
| (培地1、2、3)      |        |
| 生育温度範囲(培地4)    | 17~46℃ |
| 生育適正温度(培地4)    | 23~44℃ |
| 食塩存在下での生育(培地4) | 2%     |
| イオジニン生産性       | 陰 性    |

培地1 : トリアプトン・イーストエキス・ブロス(ISP 1)

培地2 : ペプトン・イーストエキス・鉄寒天(ISP 6)

培地3 : チロシン寒天(ISP 7)

培地4 : イーストエキス・麦芽エキス寒天(ISP 2)。

【0052】(4) 炭素源の資化性 である。

また、ブリードハム・ゴトリブ寒天培地(ISP 9) 【0053】

を使用して、28℃、14日間培養後に観察した SA 【表3】

NK 60695株の炭素源の資化性は表3に示す通り

|          |   |          |   |
|----------|---|----------|---|
| D-グルコース  | + | D-フルクトース | + |
| L-アラビノース | + | L-ラムノース  | ± |
| D-キシロース  | + | シュクロース   | ± |
| イノシトール   | ± | ラフィノース   | - |
| D-マンニトール | + | 対照       | - |

+ : 資化する      ± : 弱く資化する      - : 資化しない。

【0054】(5) 化学分類学的性質

SANK 60695株の細胞壁は長谷川らの方法「長  
谷川ら、ザ・ジャーナル・オブ・ジェネラル・アンド・アプライド・マイクロバイオロジー(The Journal of Ge-  
neral and Applied Microbiology)、29巻、319  
-322頁、1983年」に従い検討した結果、mes

α-ジアミノピメリン酸が検出された。また、SANK 60695株の全細胞中の主要糖成分をエム・ビー・レシェバリエの方法「M. P. Lechevalier、ジャーナル・オブ・ラボラトリー・アンド・クリニカル・メディシン (Journal of Laboratory and Clinical Medicine)、71巻、934-944頁、1968年」に従い検討した結果、少量のマジェロースが検出された。細胞壁ペプチドグリカンのアシル基について内田らの方法「K. Uchida ら、ザ・ジャーナル・オブ・ジェネラル・アンド・アプライド・マイクロバイオロジー (The Journal of General and Applied Microbiology)、25巻、169-183頁、1979年」に従い検討した結果、アセチル型であった。ヘフトらの方法「S. T. Hecht ら、ジャーナル・オブ・クリニカル・マイクロバイオロジー (Journal of Clinical Microbiology)、4巻、284-287頁、1976年」に従いミコール酸について検討した結果、検出されなかった。「放線菌の同定実験法」(131-139頁、日本放線菌学会編、中越印刷、東京、1988年)に従ってイソプレノイド・キノンを検討した結果、主成分としてMK-9(H2)を、副成分としてMK-9およびMK-9(H4)をそれぞれ検出した。「放線菌の同定実験法」(88-103頁、日本放線菌学会編、中越印刷、東京、1988年)に従ってリン脂質を検討した結果、フォスファチジルエタノールアミンを検出したが、フォスファチジルコリンおよびフォスファチジルグリセロールは確認されなかった。

【0055】以上の菌学的性質から、SANK 60695株は放線菌の中でもミクロスピロラ (Microbispora) 属に属することが明らかにされた。従って、SANK 60695株をミクロスピロラ・エスピー (Microbispora sp.) と同定した。

【0056】本菌株は、ミクロスピロラ・エスピー SANK 60695 (Microbisporasp. SANK 60695) 株としてブダペスト条約に従って通商産業省工業技術院生命工学工業技術研究所に国際寄託されている (寄託番号、微工研条寄第 4992 号 (FERM BP-4992)；原寄託日、1995年 2月 7日)。

【0057】以上、SANK 60695株について説明したが、周知の如くミクロスピロラ属の菌類の諸性質は一定したものではなく、自然的、または人工的な操作 (例えば、紫外線照射、放射線照射、化学薬品処理等) により、変異を起こし易く、本発明のSANK 60695株もこの点は同じである。本発明にいうSANK 60695株はそのすべての変異株を包含する。また、これらの変異株の中には、遺伝学的方法、例えば、組換え、形質導入、形質転換等により得られたものも包含される。即ち、ミクロスピロラ属に属するビスイソフラボン類を生産するSANK 60695株、その変異株およびそれらと明確に区別されない菌株は、すべてSANK

K 60695株に包含されるものである。

【0058】

【発明の実施の形態】本発明の菌株を分離するに際して、使用される分離培地としては炭素源、窒素源、無機イオンおよび有機栄養源等より選択されたものを適宜含有する培地であれば合成または天然培地のいずれでも使用可能である。分離操作は常法に従って行われる。

【0059】本発明の新規化合物ビスイソフラボン類を得るため、これらの微生物の培養は他の発酵生成物を生産するために用いられるような培地中で行なわれる。このような培地中には、微生物が資化出来る炭素源、窒素源および無機塩を含有する。

【0060】一般に、炭素源としてグルコース、フラクトース、マルトース、シュクロース、マンニトール、グリセロール、デキストリン、オート麦、ライ麦、トウモロコシデンプン、ジャガイモ、トウモロコシ粉、大豆粉、綿実油、糖蜜、クエン酸、酒石酸などを単一に、あるいは併用して用いる事が出来る。一般には、培地量の1-10重量%で変量する。好適には7-9重量%であり、最適には8重量%である。

【0061】窒素源としては、一般に蛋白質を含有する物質を発酵工程に用いる。適当な窒素源としては、大豆粉、フスマ、落花生粉、綿実粉、カゼイン加水分解物、ファーマミン、魚粉、コーンステープリカー、ペプトン、肉エキス、イースト、イーストエキス、マルトエキス等の動物系、植物系またはエキス類の窒素源、硝酸ナトリウム、硝酸アンモニウム、硫酸アンモニウム等の無機窒素源である。窒素源は、単一または併用して培地量の0.1-6重量%の範囲で用いる。好適には2-4重量%であり、最適には3重量%である。

【0062】培地中に取り入れる栄養無機塩は、ナトリウム、アンモニウム、カルシウム、カリウム、マグネシウム、鉄、フォスフェート、サルフェート、クロライド、カーボネート等のイオンを得ることの出来る通常の塩類である。また、コバルト、マンガン、ストロンチウム等の微量の金属、その他ブロマイド、フルオリド、ボレート、シリケート等の微量イオンを得る塩も含む。

【0063】液体培養に際しては、消泡剤としてシリコン油、植物油、界面活性剤等が使用される。

【0064】SANK 60695株を培養しビスイソフラボン類を生産する培地のpHは、5.0-8.0に変化させることが出来る。好ましくはpHは、7前後である。

【0065】菌の生育温度は4℃から32℃までであるが20℃から30℃の範囲が生育良好であり、更にビスイソフラボン類の生産には、23℃付近が好適である。

【0066】ビスイソフラボン類は、好氣的に培養して得られるが通常用いられる好氣的培養法、例えば固体培養法、振とう培養法、通気攪拌培養法等が用いられる。

特に、振とう培養法が好ましい。

【0067】小規模な培養においては、20℃ から26℃で数日間振とう培養を行うのが良好である。培養は三角フラスコ中で、1-2段階の種の発育工程により開始する。種発育段階の培地は、炭素源および窒素源を併用出来る。種フラスコは定温インキュベーター中で23℃、1乃至3日間振とうするか、または十分に成長するまで振とうする。成長した種は第二の種培地、または生産培地に接種するのに用いる。中間の発育工程を用いる場合には、本質的に同様の方法で成長させ、生産培地に接種するためにそれを部分的に用いる。接種したフラスコを一定温度で1乃至3日間、または生産量が最大に達するまで振とうし、インキュベーションが終わったらフラスコの含有物を遠心分離またはろ過する。

【0068】大量培養の場合には、攪拌機、通気装置を付けた適当なタンクで培養するのが好ましい。この方法によれば、栄養培地をタンクの中で作成出来る。栄養培地を125℃まで加熱して滅菌し、冷却後、滅菌培地にあらかじめ成長させてあった種を接種する。培養は20℃乃至26℃で通気攪拌して行う。この方法は、多量の化合物を得るのに適している。

【0069】培養の経過に伴って生産されるビスイソフラボン類の量の経時変化は、高速液体クロマトグラフィーを用いて測定することが出来る。通常は、振とう培養法で5日間から8日間の培養でビスイソフラボン類の生産量は最高値に達する。

【0070】培養終了後、培養液中の液体部分及び菌体内に存在するビスイソフラボン類は、培養液と同容量程度のアセトンなどのケトン類、アセトニトリルなどのニトリル類のような有機溶媒を添加し、混合することにより抽出する。抽出液中に存在する菌体、その他の固形部分を珪藻土をろ過助剤とする、ろ過操作または遠心分離によって分別し、そのろ液または上清中および菌体中に存在するビスイソフラボン類を、5 $\alpha$ -還元酵素阻害活性を指標にしてその物理化学的性状を利用し抽出精製することにより得られる。例えば、ろ液または上清中に存在するビスイソフラボン類は、最初に濃縮操作で混在する有機溶媒を除去した後、中性または酸性pH条件下で水と混和しない有機溶剤、例えばブタノールなどのアルコール類、メチルエチルケトンなどのケトン類、酢酸エチルなどのエステル類、クロロホルム、塩化エチレン、塩化メチレンなどのハロゲン化炭化水素類を用いて単独または、それらの組み合わせにより抽出精製することができる。

【0071】あるいは吸着剤として、例えば活性炭または吸着用樹脂であるアンバーライトXAD-2、XAD-4 (ローム・アンド・ハース社製)等や、ダイアイオンHP-10、HP-20、CHP-20P、HP-50 (三菱化成(株)社製)等が使用される。ビスイソフラボン類を含む液を上記のごとき吸着剤の層を通過させ

て不純物を吸着させて取り除くか、またはビスイソフラボン類を吸着させた後、アセトン水などの含水ケトン類、メタノール水、ブタノール水などの含水メタノール類を用いて溶出させることにより得られる。また、菌体内に存在するビスイソフラボン類は、50-90% 含水アセトンなどの含水ケトン類または含水メタノール類などの含水アルコール類により抽出し、次いで有機溶剤を除去した後、ろ液と同様な抽出精製操作を行なうことにより得られる。

【0072】このようにして得られたビスイソフラボン類は、更にシリカゲル、マグネシウム-シリカゲル系のフロリジルのような担体を用いた吸着カラムクロマトグラフィー、セファデックス LH-20 (ファルマシア社製)などを用いた分配カラムクロマトグラフィー、セファデックス G-25 (ファルマシア社製)などを用いたゲルろ過クロマトグラフィー、および順相、逆相カラムを用いた高速液体クロマトグラフィー等で精製することが出来る。以上の分離、精製の手段を単独または適宜組み合わせ反復用いることによりビスイソフラボン類を分離精製することができる。

【0073】本発明のビスイソフラボン類またはその塩は、文献未載の新規化合物であり、動物(例、ヒト、イヌ、ネコ、ウサギ等)において、5 $\alpha$ -還元酵素阻害作用を示すことから、5 $\alpha$ -還元酵素阻害剤として有用である。

【0074】本発明のビスイソフラボン類またはその塩を医薬として用いる場合、常法に従って種々の形態で投与される。その投与形態としては例えば散剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、シロップ剤などの形態で経口的または注射剤(静脈内、筋肉内、皮下)、点滴剤、座剤、塗布剤、軟膏剤などの形態で非経口的に安全に投与することが出来る。これらの各種製剤は、常法に従って主薬に賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、安定剤、矯味矯臭剤、溶解補助剤、懸濁剤、コーティング剤、希釈剤などの医薬の製剤技術分野において通常使用しうる既知の補助剤を用いて製剤化することができる。投与量は対象疾患、投与経路および投与回数などにより異なるが、例えば成人に対しては1日 上限2000mg、好ましくは500mg、から下限20mg、好ましくは100mg、を症状に応じて1回または数回に分けて投与するのが好ましい。

【0075】

【実施例】次に実施例をあげて本発明を更に具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0076】実施例 1.

(1) 培養

SANK 60695株を、下記の組成の前培養培地100mlを含む500mlの三角フラスコ(種フラスコ)に接種した。次いでこれを28℃で5日間、210rpmのロータリー振盪機で前培養を行った。

【0077】

## 前培養培地組成

|              |     |    |
|--------------|-----|----|
| グルコース        | 10  | g  |
| グリセロール       | 10  | g  |
| シュクロース       | 10  | g  |
| 生イースト        | 10  | g  |
| オートミール       | 5   | g  |
| 大豆粉          | 20  | g  |
| カザミノ酸        | 5   | g  |
| CB-422 (消泡剤) | 0.5 | ml |
| 炭酸カルシウム      | 1   | g  |

水道水 1000 ml (pH 7.0).

【0078】本培養は次のように行った。30リットルのジャーフェーマンター2機に下記の本培養培地 15リットルを入れ、121℃で40分間加熱滅菌した。これに種培養液 75mlを接種し、回転数 100rp

m、通気量 15リットル/minで、28℃で 7日間、攪拌培養を行った。

【0079】

## 本培養培地組成

|               |     |    |
|---------------|-----|----|
| 大豆粉           | 30  | g  |
| 硫酸マグネシウム・7水和物 | 2   | g  |
| グルコース         | 30  | g  |
| 炭酸カルシウム       | 4   | g  |
| 生イースト         | 10  | g  |
| CB-422 (消泡剤)  | 0.5 | ml |

水道水 1000 ml (pH 7.2).

【0080】(2) 単離

培養液にセライトを加えて吸引ろ過し、得られた菌体に80%アセトン 70リットルを加えて抽出した。この混合物を吸引ろ過し、ろ液を減圧濃縮してアセトンを除去した。これをpH2に調製し2倍量の酢酸エチルを使用して3回抽出した。酢酸エチル層を飽和食塩水 15リットル、次いで水 15リットルで洗浄後、無水硫酸ナトリウムで脱水し、ろ過後、減圧留去すると 58.6gの濃褐色の油状物が得られた。この油状物質をヘキサナー酢酸エチル(3:7)に溶解し、シリカゲルカラムクロマトグラフィー(シリカゲル 60、メルク社)に付した。以下、5 $\alpha$ -還元酵素阻害活性の認められた画分を濃縮すると、1.16gの褐色の油状物質が得られた。これを再びジクロロメタン-メタノール(95:5)に溶解し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付した。活性の認められた画分を濃縮すると、61.2mgの褐色物質が得られた。この物質をメタノールで溶解し、60%含水メタノール溶媒で平衡化した高速液体カラムクロマトグラフィー(センシユバック OD S-H-4252、センシユ科学(株)社製)に付した。その結果、A-758491が 8.7mg、A-758492が 4.2mg、A-758493が 7.2mg、A-758494が 2.8mgの活性成分として得られた。

【0081】

【発明の効果】以下に5 $\alpha$ -還元酵素阻害作用の試験結果を述べる。

【0082】試験例 1.

(1) ラット前立腺からの5 $\alpha$ -還元酵素の調製

成熟雄ラット(350-400g: Spague-Dawley)の前立腺腺葉をはさみで小片に細切後、組織の約3倍量の緩衝液(0.33Mシュクロース、1mMジチオスレイトール、50mM ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドホスフェート還元体(NADPH)、0.001%フェニルメチルスルホニルフルオリド(PMSF)を含む 20mMリン酸カリウム緩衝液(pH7.4)を加え、まずポリトロン(KINEMATICA Gmb)で、ついでテフロン-ガラスホモジナイザーでホモジナイズした。得られたホモジネートを遠心分離(100,000 $\times$ g、60分)し、沈殿物を上記緩衝液に懸濁し、再び同条件で遠心分離して洗浄した。この沈殿物をラット5 $\alpha$ -還元酵素とし、上記緩衝液を加えて、蛋白量を約 20mg/mlに調製後、-80℃で凍結保存した。

【0083】(2) ラットの5 $\alpha$ -還元酵素阻害試験

ラットの5 $\alpha$ -還元酵素(蛋白量 200 $\mu$ g)、2 $\mu$ M [ $^{14}$ C] テストステロン、1mMジチオスレイトール、1.5mM NADPHを含む 40mMリン酸カ

リウム緩衝液 (pH 7.0) にジメチルスルホキシド (場合によってはエタノールを用いて) に溶解した検体 2ml (対照群には溶媒のみ) を加え、総液量が 100 $\mu$ l になるように調製した後、37℃で25分間-40分間インキュベートした。その後、100mlのエタノールを加えて反応を停止し、この反応液のうちの 25 $\mu$ l を薄層クロマトプレート (LK6DF silica plate, Whatman社製) にスポットし、酢酸エチル-シクロヘキサン (1:1) 混合液で室温中で2度展開した。薄層クロマトプレート上の放射活性はバイオイメージアナライザー (富士写真フイルム (株) 社製) を用いて測定した。ラットの5 $\alpha$ -還元酵素活性は、加えた [ $^{14}$ C] テストステロンのうち、[ $^{14}$

C] 5 $\alpha$ -ジヒドロテストステロンとなった割合 (変換率 (%)) で表し、検体の5 $\alpha$ -還元酵素阻害活性は次式を用いて求めた。

$$\text{【0084】 検体の5}\alpha\text{-還元酵素阻害活性} = \{1 - (\text{検体添加群の変換率} / (\text{対照群の変換率}))\} \times 100 (\%)$$

更に、検体の濃度を変えて上式を用いて阻害活性 (%) を求め、その値から50%阻害濃度 (IC<sub>50</sub>) を求めた。

【0085】ビスイソフラボン類の5 $\alpha$ -還元酵素阻害活性 (IC<sub>50</sub>) は以下の通りであった。

【0086】

【表4】

|          | ラット酵素 ( $\mu$ g/ml) | ヒト酵素 ( $\mu$ g/ml) |
|----------|---------------------|--------------------|
| A-758491 | 36.1                | 19.9               |
| A-758492 | 2.1                 | 41.4%*             |
| A-758493 | 3.0                 | 73.1%*             |
| A-758494 | 1.6                 | 11.8               |

\* = 1 $\mu$ g/mlでの阻害率 (%)。

【0087】以上から、本発明のビスイソフラボン類またはその塩は5 $\alpha$ -還元酵素阻害作用を有し、前立腺肥

大症の予防薬および/または治療薬などの医薬として有用である。

フロントページの続き

(72)発明者 浜田 孝和  
東京都品川区広町1丁目2番58号 三共株式会社内

(72)発明者 榎田 竜三  
茨城県つくば市御幸が丘33 三共株式会社内  
(72)発明者 高松 安行  
福島県いわき市泉町下川字大剣389-4 三共株式会社内